

LIPOPROTEINEXKRETION IM URIN
UND HYPERLIPOPROTEINÄMIE
BEIM NEPHROTISCHEN SYNDROM

Peter Kutschera

Diss
München
1984

Aus der Medizinischen Klinik II des
Klinikums Großhadern der
Ludwig-Maximilians-Universität München
Direktor Prof. Dr. med. G. Paumgartner

LIPOPROTEINEXKRETION IM URIN UND HYPERLIPO-
PROTEINÄMIE BEIM NEPHROTISCHEN SYNDROM

Inaugural - Dissertation
zur Erlangung der Doktorwürde in der gesamten Medizin
an der Ludwig Maximilians-Universität zu München

vorgelegt von
Peter Kutschera
aus Obergünzburg

München 1983

Mit Genehmigung der Medizinischen Fakultät
der Universität München

Berichterstatter : Priv. Doz. Dr. med. D. Jüngst

Mitberichterstatter: Prof. Dr. med. G. Paumgartner

Dekan : Prof. Dr. med. W. Spann

Tag der mündlichen Prüfung: 08.05.1984

INHALTSVERZEICHNIS

	Seite
1 <u>EINLEITUNG</u>	1
1.1 LITERATURÜBERSICHT	1
1.2 PROBLEMSTELLUNG	8
2 <u>MATERIAL UND METHODEN</u>	10
2.1 PATIENTEN	10
2.2 PROBENMATERIAL	12
2.2.1 Urin	12
2.2.2 Serum	12
2.3 BESTIMMUNG IM BLUT	12
2.3.1 Serumgewinnung	12
2.3.2 Auftrennung in Lipoproteinfraktionen	13
2.3.3 Triglyceridbestimmung	14
2.3.4 Cholesterinbestimmung	16
2.4 BESTIMMUNG IM URIN	18
2.4.1 Proteinbestimmung	18
2.4.2 Cholesterinbestimmung	20
2.4.3 Gelfiltration	21
2.4.4 Immundiffusion nach Ouchterlony	22
2.4.5 Immunochemische Bestimmung der Apoproteine AI, AII und B	23
2.5 STATISTIK	24

		Seite
3	<u>ERGEBNISSE</u>	25
3.1	ERGEBNISSE IM URIN	25
3.1.1	Gelfiltration	25
3.1.2	Protein, Cholesterin, HDL-Cholesterin	27
3.1.3	Immundiffusion nach Ouchterlony	29
3.2	ERGEBNISSE IM SERUM	31
3.3	KORRELATION DER URIN- UND SERUMWERTE	32
3.4	APOPROTEINE AI, AII UND B IM 24 STD.	
	SAMMELURIN	40
4	<u>DISKUSSION</u>	41
4.1	PROBENMATERIAL	41
4.2	METHODEN	41
4.3	EINFLUSSFAKTOREN	45
4.4	ERGEBNISSE	46
5	<u>ZUSAMMENFASSUNG</u>	51
6	<u>LITERATUR</u>	54
	<u>DANKSAGUNG</u>	
	<u>LEBENS LAUF</u>	

VERWENDETE ABKÜRZUNGEN

HDL = High-Density-Lipoproteine

LDL = Low-Density-Lipoproteine

VLDL = Very-Low-Density-Lipoproteine

LPL = Lipoproteinlipase

LCAT = Lecithin-Cholesterin-Acyltransferase

TG = Triglycerid

Apo = Apoprotein



Digitized by the Internet Archive
in 2026

https://archive.org/details/IA41554009_0091

1. EINLEITUNG

1.1. LITERATURÜBERSICHT

Bereits vor 65 Jahren erkannte Epstein die Hypercholesterinämie als eine allgemeine Erscheinung des nephrotischen Syndroms (1).

Wenig später wurden Untersuchungen zur Cholesterin-Exkretion im Urin unternommen (2). Bei einem Patienten mit nephrotischem Syndrom lag die Cholesterinexkretion über 1 mg/d, dagegen fand sich bei Normalpersonen keine meßbare Ausscheidung. Eine Korrelation zwischen dem Cholesteringehalt im Plasma und dem des Urins bestand nicht.

Als an 33 Patienten mit Nierenerkrankungen, insbesondere nephrotischem Syndrom, Untersuchungen zur Cholesterinausscheidung im 24 Std. Sammelurin unternommen wurden, konnten Maximalwerte bis zu 92 mg/24 Std. gemessen werden. Weitere Untersuchungen ergaben keinen Zusammenhang zwischen Plasmacholesterin und der Cholesterinausscheidung im Urin, während eine positive Korrelation zwischen Cholesterin und Protein im Urin bei diesen Patienten gefunden wurde (3).

Nachdem sich später die Erkenntnis durchgesetzt hatte, daß praktisch das gesamte Cholesterin und die Phospholipide des menschlichen Plasmas mit Polypeptiden verbunden in Lipid-Peptid Komplexen, genannt Lipoproteine, vorliegen, die elektrophoretisch in Gruppen eingeteilt werden können (4), war es Baxter, der als erster das Lipoproteinspektrum bei einem größeren Patienten-

gut mit nephrotischem Syndrom genau analysierte (5). Er fand bei den leichten Graden von nephrotischem Syndrom eine Erhöhung der Lipoproteine der Dichteklasse 1,019 - 1,063 g/ml (LDL), während bei schweren Formen die Hyperlipidämie hauptsächlich durch eine Steigerung in der Dichteklasse $d < 1,019$ g/ml (VLDL) charakterisiert war. Außerdem war bei schweren Formen die Lipidkomposition dahingehend verändert, daß das Verhältnis des Gesamtcholesterins zu den Phospholipiden erhöht war.

Gitlin und Cornwell hatten schon 1957 mit Hilfe der Ultrazentrifuge erkannt, daß die Hypercholesterinämie bei Kindern mit nephrotischem Syndrom auf einer Erhöhung der LDL beruht, während gleichzeitig die HDL erniedrigt waren (6). Ihre Ergebnisse waren in Übereinstimmung mit den Untersuchungen von Havel, Eder und Bragdon an Erwachsenen mit nephrotischem Syndrom (7). Darüberhinaus fanden Gitlin und Cornwell, daß die Aktivität der Lipoproteinlipase in unterschiedlichem Maße verringert war (6).

1962 erkannte Baxter die umgekehrte Proportionalität zwischen den Serumlipiden und dem Serum-Albumin bei Patienten mit nephrotischem Syndrom (8). Es ergaben sich jedoch keine therapeutischen Möglichkeiten hieraus, denn schon 1957 hatte Rosenmann mit nur geringen Erfolgen versucht, durch Albumin-Infusionen die Hypertriglyceridämie bei nephrotischem Syndrom zu senken (9). Daneben gelangte Rosenmann zu der noch heute akzeptierten Annahme, daß die Hypertriglyceridämie bei nephrotischem Syndrom wesentlich durch eine verminderte Plasma-Clearance von Chylomikronen und VLDL mitbedingt ist.

Neben all diesen Arbeiten, die sich mit Lipid- und Lipoproteinspektren im Serum bei Patienten mit nephrotischem Syndrom beschäftigten, wurde auch der Urin auf das Auftreten von Lipoproteinen hin untersucht.

Auf Grund papierelektrophoretischer Analysen ergaben sich schließlich erste Hinweise auf das Vorhandensein von Lipoproteinen im Urin (10).

Im Tierexperiment wurde vielfach versucht, Erkenntnisse über die pathophysiologischen Veränderungen zu gewinnen, die beim nephrotischen Syndrom vorliegen. Hierbei wurden die meisten Versuche an Ratten gemacht, bei denen durch subkutane Injektionen von Puromycin-Aminoglycosiden ein nephrotisches Syndrom mit Aszites, Hypalbuminämie und Hyperlipidämie induziert wurde. Mit Hilfe derartiger Experimente fanden Marsh und Drabkin (11), Gitlin (6) und Radding und Steinberg (12) übereinstimmend eine gesteigerte Synthese von Lipoproteinen in der Leber bei experimentellem nephrotischen Syndrom.

Gutmann und Saffir, die ebenfalls mit Ratten experimentell arbeiteten, fanden eine Verminderung der Aktivität der LPL des Fettgewebes als mögliche Erklärung für die Hyperlipidämie beim nephrotischen Syndrom (13).

Rosenmann (14) und Nikkila (15) konnten feststellen, daß die Aktivität der Plasma LPL sowohl beim experimentellen nephrotischen Syndrom der Ratte, wie auch beim nephrotischen Syndrom des Menschen, normal ist. Diese Ergebnisse stehen im Widerspruch zu den Untersuchungen von Hymann, der eine verminderte Aktivität der posthe-

parin-LPL bei Patienten mit nephrotischem Syndrom fand (16), und dessen Experimente durch die Ergebnisse von Yamada und Matsuda bestätigt wurden (17).

Jensen untersuchte 30 Patienten mit nephrotischem Syndrom und stellte bei 19 von ihnen einen gesteigerten Katabolismus von Albumin fest (18).

Die klinische Relevanz dieser Studie zur Pathogenese der Hyperlipidämie beim nephrotischem Syndrom liegt in erster Linie darin, daß die Hyperlipidämie einen wesentlichen Risikofaktor für die Entwicklung einer Arteriosklerose darstellt. Berlyne erkannte, daß die Hyperlipidämie beim nephrotischen Syndrom das Risiko einer ischämischen Herzerkrankung 48 - 85 mal vergrößert (19).

In Übereinstimmung hiermit sind Autopsie-Studien von Alexander (20) und Curry (21), die feststellten, daß der Tod der meisten Patienten mit nephrotischem Syndrom durch arteriosklerosebedingte Erkrankungen verursacht wurde. Gleichzeitig erkannte Castelli die inverse Korrelation zwischen Plasma HDL-Cholesterin und arteriosklerotischen Erkrankungen (22).

Mc Kenzie und Nestel fanden, daß die Synthese der Plasma-TG bei Patienten mit nephrotischem Syndrom erhöht ist (23). Außerdem kamen sie, ähnlich wie Kekki und Nikkila (24), zu dem Schluß, daß der Ursprung der Hyperlipidämie beim nephrotischen Syndrom wahrscheinlich multifaktoriell bedingt ist, weil gleichzeitig Veränderungen der Synthese und des Metabolismus von Lipiden und Lipoproteinen vorhanden sind.

Chopra untersuchte 1971 die Lipoprotein-Profile von 33 Patienten mit nephrotischem Syndrom (25). Bei 17 von ihnen fand er abnormale Lipoproteine-Profile, wobei 12 von diesen den TYP IIb nach Fredrickson aufwiesen.

Bei der Analyse des Urins von 13 Patienten mit nephrotischem Syndrom wurde eine durchschnittliche Cholesterinausscheidung von 52,0 mg/d gemessen (26). Es bestand eine nur mäßige Korrelation ($r = 0,61$) zur Proteinurie, eine deutlich bessere zur Albumin-Clearance. Auch in dieser Studie fand sich keine Korrelation zwischen Plasmacholesterin und der im Urin ausgeschiedenen Cholesterinmenge.

Einen entscheidenden Fortschritt zum Verständnis der Pathogenese der Hyperlipidämie beim nephrotischen Syndrom brachten die Experimente von Felts und Mayerle, die im Urin eines Patienten mit nephrotischem Syndrom eindeutig HDL identifizieren konnten (27). Der Nachweis erfolgte nach Konzentration eines 24 Std. Sammelurins, sowohl mit Hilfe der Ultrazentrifuge, als auch durch Gelchromatographie.

HDL ist von entscheidender Wichtigkeit bei der in vivo Aktivierung der LPL (28). Nach Eisenberg (29) und Schäfer (31) ist der Katabolismus von VLDL strikt an die Anwesenheit von HDL gebunden.

Die Folgerung Gherhardies lautete: wenn im Urin HDL (und mit ihm wichtige Faktoren des VLDL- und auch des LDL-Katabolismus, wie die Apoproteine A_1 und C_{II}) verloren geht, werden Veränderungen im Serum-Lipoproteinspektrum erklärbar (31).

Diese Annahme lag auch den Experimenten von Mendoza und Kashyap (32) zugrunde, die bei einer großen Anzahl von nephrotischen Ratten sowohl Serum, als auch Urin mit Hilfe der präparativen Ultrazentrifuge nach Havel (7) analysierten. Im Gegensatz zum Kontrollurin fanden sie im nephrotischen Urin eine erhöhte Cofaktor-Aktivität für die LPL-Triglycerid Interaktion, die für die Anwesenheit von Apoproteinen C_{II} , einer Komponente des HDL, spricht. Daneben fiel ihnen auf, daß die HDL, die sie im Urin gemessen hatten, eine andere Zusammensetzung hatten, als die HDL im Plasma. Sie folgerten daraus, daß HDL während seiner Passage durch das Nephron von der Niere verändert wird.

Auch Straphans und Felts konnten die Apoproteine A_1 und C_{II} im Urin von Patienten mit nephrotischem Syndrom nachweisen (33). Außerdem fanden sie 1977 (34) ein Molekül, ähnlich oder identisch dem alpha 1 - acid Glycoprotein, einem wichtigen Cofaktor der LPL-Reaktion, im Urin von nephrotischen Ratten, indem sie die Methode von Hardwicke (35) und die präparative Polyacrylamid Gel-Elektrophorese nach Bamberg (36) anwendeten.

Newmark und Anderson untersuchten 1975 die Lipoprotein-Profile bei 96 erwachsenen Patienten mit nephrotischem Syndrom, wobei sie umgekehrt proportionale Beziehungen fanden zwischen Serum Cholesterin - Serum Albumin, Serum TG - Serum Albumin und 24 Std. Urin Albumin - Serum Albumin, wohingegen zwischen Serum Cholesterin bzw. TG und 24 Std. Urinprotein keine Beziehungen bestanden (37).

Während Newmark zur Lipoproteinfraktionierung und Analyse die Methode von Ellefson (38) anwandte, gebrauchte Gherhardie 1977 (39) bei einer ähnlichen Studie die Methode der präparativen Ultrazentrifugation nach Havel (7).

Gherhardi fand eine reziproke Beziehung von VLDL und LDL zu HDL und außerdem Veränderungen in der Komposition aller Lipoproteinfraktionen dahingehend, daß diese mehr Phospholipide und weniger Proteine als normal enthielten. Außerdem stellte Gherhardi auf Grund der Ergebnisse von Scow und Olivecrona (40) und Fielding (40), die eine in vitro Verminderung der Aktivität der LPL und der LCAT in einem Assay-Medium in Abwesenheit von Albumin erbracht hatten, die Hypothese auf, daß der massive Verlust von Albumin über eine Verminderung der LPL und LCAT zur Hyperlipidämie bei nephrotischem Syndrom beitragen könnte.

Kashyap entdeckte 1979 nach Messung des Apoproteins C_{II} mittels doppeltem Antikörper-Radioimmunoassay, daß die Apoproteine bei Patienten mit nephrotischem Syndrom im Urin in 10 mal größerer Menge ausgeschieden werden als bei Normalpersonen, im Serum jedoch geringfügig erhöht sind. Messungen der post-heparin Plasma Leber LPL bei Patienten mit nephrotischem Syndrom ergaben niedrigere Werte ($2,9 \pm 2,5 \mu\text{M FFA/ml/h}$) verglichen mit Normalpersonen ($14,4 \pm 4,2 \mu\text{M}$) (42).

Schließlich unternahm Kashyap 1979 weitere Untersuchungen (43) an 9 Patienten mit nephrotischem Syndrom, wobei er bei allen 9 mittels Doppel-Diffusion nach Ouchterlony (44) HDL im Urin und außerdem bei 2 Patienten LDL im Urin nachweisen konnte. Im Serum, das er mit

Hilfe der präparativen Ultrazentrifuge nach Havel (7) und der Methoden des Lipid Research Clinics Programm (45) untersuchte, stellte er bei 5 von 9 Patienten erniedrigte bzw. im unteren Grenzbereich liegende Werte für HDL-Cholesterin fest, während das LDL-Cholesterin bei allen Patienten stark erhöht war. Außerdem konnte er bei allen 5 Patienten, bei denen durch Biopsie gewonnenes Nierengewebe vorhanden war, HDL- und LDL-Antigene im Nierengewebe feststellen.

1.2 PROBLEMSTELLUNG

Trotz der vielen experimentellen Arbeit, die, nicht zuletzt wegen der enormen klinischen Bedeutung bezüglich arteriosklerotischer Krankheiten, in den letzten Jahren durchgeführt wurde, um die Pathogenese der Hyperlipidämie beim nephrotischen Syndrom zu klären, ist eine vollständige Lösung des Problems noch nicht in Sicht. Allgemein akzeptiert wird die Annahme, daß die Hyperlipidämie sowohl durch eine gesteigerte Lipoproteinsynthese in der Leber, als auch durch einen verminderten Katabolismus bedingt ist, der durch einen Verlust von wichtigen Cofaktoren der LPL und LCAT im Urin zumindest mitverursacht ist.

In der vorliegenden Arbeit wurde erstmals bei einem größeren Patientenkollektiv mit nephrotischem Syndrom das Lipoproteinmuster, sowohl im Serum, als auch im Urin, bestimmt, und die Serum- bzw. Urinwerte zueinander in Beziehung gesetzt. Auf diese Weise wurde ver-

sucht, zur Klärung der Ätiologie der Hyperlipidämie bei Patienten mit nephrotischem Syndrom beizutragen.

Dabei sollten die folgende Fragen beantwortet werden:

1. Ist bei hoher Proteinausscheidung im Urin, auf Grund einer Nierenschädigung, auch die Cholesterinausscheidung hoch und gleichzeitig, wegen des Proteinverlustes, die Serumproteinmenge erniedrigt?
2. Ist bei niedrigem Serum-Albumin das Serum-Cholesterin erhöht, und führt ein gesteigerter Cholesterinverlust im Urin zu erhöhten Serum-Cholesterinwerten?
3. Führen hohe HDL-Verluste im Urin zu hohen LDL-Werten im Serum, und ist bei HDL-Verlusten im Urin das HDL im Serum erniedrigt?
4. In welchem Verhältnis steht das Serum-HDL zum Serum-LDL?

2. MATERIAL UND METHODEN

2.1. PATIENTEN

In dieser Arbeit wurden 19 Patienten mit nephrotischem Syndrom unterschiedlicher Ätiologie untersucht. Die Patienten waren zum Zeitpunkt der Probengewinnung in ambulanter oder stationärer Behandlung der Medizinischen Kliniken I - III des Klinikum Großhadern oder in stationärer Behandlung der inneren Abteilung des Harlachinger Krankenhauses.

Bezüglich der Diagnose "Nephrotisches Syndrom" wurden die Definition von Hans Sarre und Brenner und Rector zugrunde gelegt.

Nach Hans Sarre (46) ist das "Nephrotische Syndrom" definiert als ein Symptomenkomplex mit Proteinurie über 2 g pro die, einer Hypoproteinämie unter 6 g%, einer nephrotischen Dysproteinämie mit niedrigem Albumin und erhöhtem Alpha-2-Globulin, einer Hyperlipidämie und Ödemen.

Als verursachende Grundkrankheit findet sich in über 60% eine chronische Glomerulonephritis, bei ca. je 10% eine Lipoidnephrose oder eine Amyloidose und bei ca. 5% ein Diabetes mellitus.

Nach Brenner und Rector (47) ist das "Nephrotische Syndrom" ein klinisches Erscheinungsbild, das vielfältige

Ursachen haben kann und charakterisiert ist durch eine vergrößerte Glomerulum-Permeabilität, die sich in massiver Proteinurie und Lipidurie äußert. Weiterhin besteht eine Tendenz zu Ödemen, Hypoalbuminämie und Hyperlipidämie.

Die klinischen Parameter wurden den Krankenunterlagen entnommen. Es wurde, neben der Berücksichtigung der Untersuchung des Urinsediments, der Nierenretentionswerte im Plasma, der Fettwerte, des Vorhandenseins von Ödemen, der Elektrophorese im Plasma sowie der Ergebnisse der Nierensonographie und der Ausscheidungspyelographie, speziell Wert gelegt auf eine Proteinausscheidung von mindestens 2 g pro 24 Std..

Mit Ausnahme der Patienten mit diabetischer Nephropathie lagen bei allen Patienten die Befunde der Nierenbiopsie vor. Keiner der 19 Patienten stand zum Zeitpunkt der Probengewinnung unter einer Steroidtherapie. Es fanden sich 14 Patienten mit Glomerulonephritis und 5 Patienten mit diabetischer Nephropathie. Die 14 Patienten mit Glomerulonephritis wurden anhand der Nierenbiopsie mit anschließender histologischer Untersuchung eingeteilt in 4 Fälle mit perimembranöser Glomerulonephritis, 3 Fälle mit epimembranöser Glomerulonephritis, 2 mit mesangioproliferativer Glomerulonephritis, 2 mit fokal-sklerosierender Glomerulonephritis, ein Fall mit minimal-change Glomerulonephritis, ein Fall mit diffus proliferativer Glomerulonephritis, ein Fall mit chronisch membranöser Glomerulonephritis.

Unter den aufgeführten Patienten fanden sich 5 mit weiblichem und 14 mit männlichem Geschlecht.

Die Patienten waren zwischen 17 und 69 Jahre alt, wobei das Durchschnittsalter 44 betrug.

2.2 PROBENMATERIAL

2.2.1. Urin

Bei jedem Patienten wurde der 24 Std. Urin verwendet, dem nach der Sammelperiode 200 mg Na N₃ /l zugegeben wurde. Ca. 500 ml des Urins wurden unmittelbar nach der Sammelperiode und nachdem die Gesamturinmenge gemessen war, weiter analysiert. Besondere Diätvorschriften wurden während der Sammelperiode nicht beachtet.

2.2.2. Serum

Es wurde bei jedem Patienten 20-30 ml Blut nach 12-14 stündigem Fasten venös entnommen und gleich nach der Entnahme weiterverarbeitet. Die Blutentnahme erfolgte jeweils am Ende der 24 stündigen Urin-Sammelperiode.

2.3 BESTIMMUNG IM BLUT

2.3.1 Serumgewinnung

Durch 5-minütige Zentrifugation des Blutes bei 2500 U/min wurde das Serum gewonnen.

2.3.2 Auftrennung in Lipoproteinfraktionen

VLDL-Abtrennung durch präparative Ultrazentrifugation

3 ml Vollserum wurden mit 3 ml NaCl-Lösung ($d = 1,006$) in ein Polyallomer-Röhrchen pipettiert. Das Röhrchen wurde verschlossen und für 22 Std. in eine Ultrazentrifuge (Beckman Rotor 40.3) gestellt. Die Zentrifugation erfolgte bei 105000g, einer Dichte von 1.006g/ml und einer Temperatur von 4 °C.

Nach erfolgter Ultrazentrifugation stellte sich die VLDL-Fraktion als weißlich trüber Überstand dar. In einem Schneideblock wurde das Polyallomer-Röhrchen in Höhe der Grenzlinie zum Unterstand durchgeschnitten und damit die VLDL-Fraktion von der darunter befindlichen LDL- und HDL-Fraktion getrennt. Die VLDL-Fraktion (ca. 3 ml) wurde abgesaugt und für die spätere Cholesterin- und Triglyceridbestimmung im Gefrierschrank aufbewahrt.

HDL-Abtrennung durch LDL-Präzipitation

Von dem verbliebenen Unterstand (ca. 3 ml) wurde 1 ml in ein Eppendorf-Cup zusammen mit 100 µl Fällungsreagenz pipettiert. Das Fällungsreagenz setzte sich aus einer Phosphorwolframsäurelösung (4,8 g/dl) und einer Magnesiumchloridlösung (3,0 mol/l) im Verhältnis 5:1 (v/v) zusammen.

Nach dem Vermischen von Probe und Fällungsreagenz kam es zur Präzipitation von LDL (im Vollserum auch von VLDL). Das Reaktionsgemisch wurde noch 10 min bei

Raumtemperatur stehen gelassen und dann 30 min bei 40000 U/min zentrifugiert.

Die HDL-Fraktion erhielt man dann durch Absaugen des klaren Überstandes, der später für die HDL-Cholesterinbestimmung herangezogen wurde.

Anschließend wurde das Cholesterin im Serum, in der VLDL- und HDL-Fraktion bestimmt. Die LDL-Cholesterinwerte errechneten sich aus den Serum-Cholesterinwerten abzüglich der VLDL- und HDL-Cholesterinwerte.

2.3.3 Triglyzeridbestimmung

Zur Anwendung kam ein UV-Test nach Boehringer Mannheim GmbH Diagnostika. Hierbei handelt es sich um eine enzymatische Bestimmung nach Verseifung mit äthanolischer Kalilauge, die zurückgeht auf Eggstein, Kreutz und Schmidt (48, 49, 50).

Entsprechend dem Testprinzip wurden Triglyzeride zuerst mittels Kalilauge in Glycerin und Fettsäuren gespalten. ATP und als Ferment Glycerokinase wurden dem Glycerin zugesetzt.

Daraus entstand Glycerin-3-Phosphat und ADP.

Letzteres reagierte mit Phosphorendolpyruvat unter Katalyse der Pyruvatkinase zu Pyruvat und ATP. Zu Pyruvat gab man NADH und H^+ -Ionen, außerdem Laktatdehydrogenase. Diese reduzierte Pyruvat zu Laktat, wobei NAD^+ übrig blieb.

Durchführung der Verseifung:

In ein Zentrifugenröhrchen wurden 0,2 ml Serum und 0,5 ml äthanolische Kalilauge pipettiert, mit dem Press to Mix gemischt, 20 Minuten bei 70 Grad C im Wasserbad inkubiert und anschließend auf Zimmertemperatur abgekühlt. Daraufhin wurde 1 ml Magnesiumsulfatlösung hinzugegeben, zentrifugiert und 0,5 ml des Überstandes zur Bestimmung eingesetzt.

Reagenzien

Inhalt	Konzentration der Lösungen
1) Triäthanolamin-puffer MgSO_4	0,1 mol/l, pH 7,6
2) NADH	6 mmol/l
ATP	33 mmol/l
PEP	11 mmol/l
3) LDH	≥ 800 U/ml
PK	≥ 130 U/ml
4) GK	≥ 150 U/ml

Durchführung der Bestimmung:

Für 10 Bestimmungen wurden folgende Volumina zum Reaktionsgemisch verarbeitet. 26,0 ml aus Lösung 1, 1,0 ml aus Lösung 2, 0,2 ml aus Lösung (Suspension) 3. Die 0,5 ml Überstand wurden mit 2,5 ml Reaktionsgemisch versetzt und ca. 10 Minuten bei Zimmertemperatur inkubiert. Danach wurde die Extinktion E_1 gemessen. Nach Zugabe von Suspension 4 und 10minütiger Inkubation wurde die Extinktion E_2 bestimmt.

Gleichzeitig mit der Probe wurde einmal pro Reagenzienpackung der Reagenzienleerwert ermittelt. Dazu wurde bei der Verseifung destilliertes Wasser anstatt Serum eingesetzt und mit

dem Überstand wiederum der Bestimmungsansatz durchgeführt. Aus der Differenz beider Extinktionen erhielt man die Extinktion des Reagenzienleerwerts E_{RL} .

Die Konzentration der Triglyzeride berechnete sich bei 340 nm in mg% nach folgender Formel:

$$C = 718 \times E, \text{ wobei } E = E_1 - E_2 - E_{RL}$$

Die photometrisch gemessene Pyruvatmenge entsprach der eingesetzten Glyzerinmenge.

Für eine einmalige Bestimmung der Triglyzeride nach dieser Methode sind 0,05 ml der jeweiligen Lipid- bzw. Lipoproteinfraktion notwendig.

2.3.4 Cholesterinbestimmung

Sie wurde entsprechend der CHOD-PAP Methode nach Boehringer Mannheim GmbH Diagnostika durchgeführt. Dieser enzymatische Farbtest beruht auf den Vorschlägen von

Reagenzien

Inhalt	Konzentration der Lösungen
1) Puffer (Kaliumphosphat)	0,4 mol/l, pH 7,7
Phenol	20 mmol/l
Methanol	1,85 mol/l
2) Puffer (Kaliumphosphat)	0,4 mol/l, pH 7,7
4-Aminophenazon	2 mmol/l
Methanol	1,85 mol/l
Hydroxypolyäthoxydodecan	0,4%
3) Cholesterinesterase	≥ 40 U/ml
Cholesterinoxidase	≥ 12 U/ml
Peroxidase	≥ 8 U/ml

Röschlau, Bernt und Gruber (51). Das Testprinzip besteht darin, daß Cholesterinester und Wasser mittels Cholesterinesterase in Cholesterin und Fettsäure überführt werden. Cholesterin reagiert mit Sauerstoff in Anwesenheit der Cholesterinoxidase zu Δ^1 -Cholestenon und Wasserstoffsuperoxyd (H_2O_2). 2 Moleküle H_2O_2 ergeben mit Phenol und 4 - Aminophenazon durch die katalytische Wirkung der Peroxidase 4 Moleküle Wasser und als rosa Farbkomplex 4-(P-Benzochinon-monoimino)-phenazon, der spektralphotometrisch gemessen zur Ausgangscholesterinmenge proportional ist.

Durchführung der Bestimmung:

Die Reagenzien wurden entsprechend folgender Anleitung gemischt. Für 8 zu bestimmende Proben pipettiert man 10 ml aus Lösung 1, 10 ml aus Lösung 2 und 0,10 ml aus Lösung 3 in einen Glaskolben. Dieses Gemisch entspricht Lösung 4, dem Cholesterinreagenz. Zusätzlich wurden jeweils 0,02 ml Serum hinzugegeben. Danach wurden die Gläser mit einem Press to Mix (Cenco instrumenten b, v. breda, the netherlands) kräftig durchgeschüttelt und 30 Minuten bei Zimmertemperatur, bis zur Messung am Spektralphotometer (Beckmann, Modell 24) gegen den Reagenzienleerwert, stehen gelassen. Das Reagenzglas für den Reagenzienleerwert wurde nur mit 2,0 ml aus Lösung 4 aufgefüllt. Die Konzentration des Cholesterins im Serum berechnete sich bei 500 nm (Küvette: 1 cm Schichtdicke) in mg% wie folgt:

$$C = 585 \times E_{\text{Probe}}$$

E_{Probe} = Die Extinktion der Probe gemessen gegen den Reagenzienleerwert.

Für eine einmalige Bestimmung des Cholesterins nach dieser Methode sind nur 0,02 ml der jeweiligen Lipid- bzw. Lipoproteinfraktion notwendig.

2.4 BESTIMMUNG IM URIN

2.4.1 Proteinbestimmung

Hierbei wurde die Biuret-Methode nach Merck-Diagnostika, Darmstadt, angewendet. Der Test nutzt die Tatsache aus, daß Proteine und Peptide, im Gegensatz zu anderen stickstoffhaltigen Verbindungen (z.B. Kreatinin, Harnstoff, Harnsäure), in alkalischer Lösung mit Kupferjonen einen violetten Farbkomplex bilden. Literatur (52, 53, 54, 55).

Reagenzien

1) Biuret-Reagenz:	K-Na-Tartrat	18 mmol/l
	KJ	10 mmol/l
	CuSO ₄	12 mmol/l
	NaOH	200 mmol/l
2) Vergleichsreagenz:	K-Na-Tartrat	18 mmol/l
	NaOH	200 mmol/l

Standardserum (6 g% Eiweiß)

Durchführung der Bestimmung:

Für die Analyse wurden 0,2 ml Urin in Reagenzgläser pipettiert. Dazu gab man 5,0 ml Biuret-Reagenz. Die gleiche Urinmenge, versetzt mit 5,0 ml Vergleichsreagenz, diente als Analysenblindprobe. Nach 30minütiger Inkubation bei Raumtemperatur wurde die Extinktion der Blindprobe gegen Wasser, die Extinktion der Analyse gegen das Biuret-Reagenz gemessen.

Für jede Analysenserie wurde ein Standard angesetzt, d.h. das Standardserum wurde mit Biuret-Reagenz zusammengegeben und die Extinktion von Biuret gemessen.

Die Extinktion der Standardblindprobe wurde aus der Extinktion von Standardserum mit Vergleichsreagenz und der Extinktion von Wasser ermittelt. Zur Anwendung kam ein Spektralphotometer nach Beckmann bei 545 nm (Küvette: Schichtdicke 1 cm).

Die Berechnung der Proteinkonzentration in g% erfolgte unter Verwendung des Standards.

$$C = \frac{E_A - E_{AB}}{E_S - E_{SB}} \times 6 \text{ g/100 ml}$$

E_A = Extinktion der Analyse

E_{AB} = Extinktion der Analysenblindprobe

E_S = Extinktion des Standards

E_{SB} = Extinktion der Standardblindprobe

2.4.2 Cholesterinbestimmung

Die Bestimmung des Cholesterins im Urin erfolgte mit Hilfe der Gaschromatographie.

Zunächst war eine Hydrolyse der Cholesterinester erforderlich. Diese wurde nach Extraktion und Trocknung mit 1 ml 0.3 M/l äthanolischer KOH bei 60 °C und einer Zeit von 60 min durchgeführt. Anschließend wurde mit 1 ml 0.3 M/l Salzsäure neutralisiert. Zur Bestimmung des Cholesterins wurden im Spitzglas 2 ml Urinprobe mit 6 ml Essigsäureäthylester (Merck) im Rotator bei 50 rpm 30 min extrahiert. Nach 10 min Zentrifugation bei 3000 rpm wurde die wässrige untere Phase mit einer Spitzkapillare entnommen. Die weitere Reinigung des Extrakts erfolgte mit 0.1 M/l Natronlauge und mit H₂O. Der mit N₂ vollständig eingeeengte Rückstand wurde in 0.1 ml internem Standard (10 mg Androsten-(4)-dion-(3,17), Merck, gelöst in 100 ml i-Octan, Merck) aufgenommen, von dem 2 - 3 µl zur Gaschromatographie injiziert wurden.

Die gaschromatographische Bestimmung wurde an einem Perkin Elmer Chromatograph (Modell 900) mit Flammenionisationsdetektoren durchgeführt. Als Trennsäule wurde eine Glassäule, 180 cm x 2 mm, gefüllt mit 1 % XE 60 auf Gas-Chrom Q, 80 - 100 mesh, verwendet. Die Chromatographie erfolgte bei 230 °C isotherm, N₂ 35 ml/min, H₂ 30 ml/min und Luft 400 ml/min.

Vor Injektion einer Probenreihe wurden mehrfach 2-3 µl der Standardlösung (10 mg Cholesterin, Merck, und 10 mg Androstendion, Merck, gelöst in 100 ml i-Octan) zur Absättigung injiziert, bis eine konstante Peakhöhen-Ratio erreicht war.

2.4.3 Gelfiltration

Zur Fraktionierung des Cholesterins im Urin wurde der 24 Std. Sammelurin verwendet. Die Verarbeitung erfolgte sofort nach Probengewinnung. Um zellige Bestandteile zu entfernen wurde der Urin filtriert (Selecta Falten-Filter Nr. 1117 1/2, Schleicher-Schüll). Zur Ausfällung des Tamm-Horsfall-Mukoproteins wurde die Probe mit NaCl auf eine Konzentration von 0,56 M/l eingestellt. Der gebildete Niederschlag wurde durch Zentrifugation bei 3000 rpm für 10 min abgetrennt.

Der klare Überstand wurde mit Natriumazid (800 mg/l) versetzt und zur weiteren Einengung in einen 4 l fassenden Metall-Druckbehälter (Amicon) übergeführt. Die nachfolgende Ultrafiltration erfolgte über PM 10 Membranen (Amicon) in einer 400 ml Rührzelle (Amicon) unter N₂ bei 4 °C bis zu einer Endkonzentration von 10 - 20 ml. Zur weiteren Einengung wurden wiederum PM 10 Membranen verwendet, bis zu einem Endvolumen von 3-5 ml in einer kleineren Rührzelle.

Zur Markierung wurden diese Proben mit ³H-Cholesterin (1 µCi, NEN, 1.2.-³H-Cholesterol, NET-139) für 2 Stunden bei 20 °C im Rotator inkubiert (58).

Die weitere Präparation erfolgte auf einer 60 cm Glas säule, 60 x 2.5 cm, gefüllt mit Sephadex G 100, mesh 100-200 (Pharmacia fine Chemicals). Als Elutionslösung wurde 0.2 M/l NaCl in H₂O, 0,001 M/l Na₂EDTA, pH 7.0 verwendet (59). Es wurden 50-60 Fraktionen zu je 10 ml gesammelt. Nach Ende der Gelfiltration wurden 0.1 ml je Fraktion entnommen und die cpm nach Zugabe von 10 ml Szintillationsmischung (Roth) im Betaszint bestimmt.

Die ^3H -Cholesterin enthaltenden Fraktionen wurden gepoolt und erneut durch Ultrafiltration über PM 10 Membranen auf etwa 3-5 ml eingeeengt. Die anschließende Gelfiltration erfolgte auf einer Glassäule, 120 x 2 cm, gefüllt mit Biogel A 5 m, mesh 100-200, (Biorad) mit 0.2 M/l NaCl in H_2O , 0.001 M/l Na_2EDTA , pH 7.0 als Elutionslösung.

Es wurden etwa 60 Fraktionen zu 10 ml gesammelt, in denen wiederum die cpm ^3H -Cholesterin von 0.1 ml der Fraktionen bestimmt wurden. Die graphische Darstellung des ^3H -Cholesteringehaltes der einzelnen Fraktionen ergab 1-3 Peaks. Diese einzelnen Peakfraktionen wurden gepoolt und über PM 10 Membranen auf 0.5 - 1.0 ml eingeeengt.

Sie waren das Ausgangsmaterial für die weitere Analytik und wurden sofort weiterverarbeitet.

2.4.4 Immundiffusion nach Ouchterlony

Zur Charakterisierung der isolierten Fraktionen wurde eine Immundiffusion durchgeführt (60). Getestet wurde gegen Antiseren (Behring Marburg), die durch Immunisierung mit α_1 -Lipoproteinen und beta-Lipoproteinen gewonnen worden waren. Nach Diffusion auf mit 1.5%igen Agar (Difco) beschichteten Deckgläsern für 48 Stunden bei 20 °C in der feuchten Kammer wurden die gebildeten Präzipitationslinien im Dunkelfeld ausgewertet. Die anschließende Färbung erfolgte mit Azokarmin.

2.4.5 Immunochemische Bestimmung der Apoproteine A-I, A-II, B in den Urinpeaks

Zur Anwendung kam der Elektroimmunoassay (61). Die "rocket"-Elektrophorese wurde auf 15 g/l Agarose Platten (Agarose aufgelöst in Barbitalpuffer, pH = 8,6) durchgeführt, nachdem 3% bzw. 0.75% von Antiseren gegen hochgereinigte Apoproteine A-I, A-II bzw. B vom Kaninchen zugegeben wurde (67,68).

Vorbereitung der Agaroseplatten:

Nach Abkühlung des Gels auf 53 °C und Zugabe der Antikörper wurden die Platten begossen. Anschließend wurden, nachdem das Gel festgeworden war (nach ca. 10 min), 10-12 Löcher von 5 mm Durchmesser am Kathodenende der Platte eingestantzt und die Urinproben aufgetragen.

Die Platten wurden für ein bis zwei Stunden in eine Elphorkammer gegeben, sodann einige Stunden in NaCl gelegt, getrocknet und anschließend mit Coomassie Blue R 250 (Serva, Heidelberg) gefärbt.

Die folgende Entfärbung wurde mit Äthanol, Eisessig und aqua dest. durchgeführt.

Zur Erstellung einer Eichkurve wurden 50-150 mg/dl von Apoprotein AI, AII und B verwendet. Die Höhe der "rockets" wurde mit einem Lineal auf 0,5 mm genau bestimmt.

2.5 STATISTIK

Bei den untersuchten Patientenkollektiven wurden jeweils die Extremwerte und der Medianwert angegeben. Bei der erstellten Korrelation wurde die Prüfung des Korrelationskoeffizienten r auf Signifikanz gegen 0 nach R.A. Fisher anhand der t -Verteilung mit $n - 2$ Freiheitsgraden durchgeführt (62).

3 ERGEBNISSE

3.1 ERGEBNISSE IM URIN

3.1.1 Gelfiltration

Nach Ultrafiltration und Markierung des Urins mit ^3H -Cholesterin erfolgte die weitere Präparation durch Gelchromatographie. Zur Eichung der verwendeten Sephadex G 100 Säule und Biogel A 5 m Säule wurden Lipoproteine des Plasmas verwendet, deren Cholesterinanteil durch Inkubation mit $1\ \mu\text{Ci}\ ^3\text{H}$ -Cholesterin markiert worden war. Zur Chromatographie wurden 2-3 ml Plasma aufgetragen. Es wurden jeweils die cpm H^3 -Cholesterin aus $100\ \mu\text{l}$ der Fraktionen bestimmt.

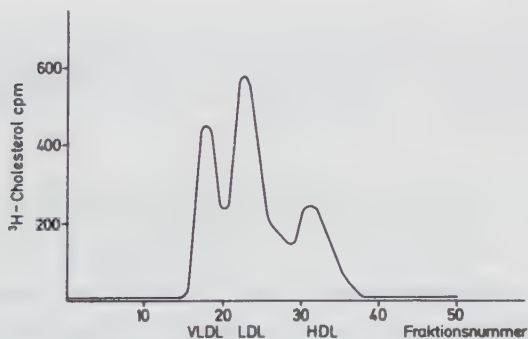


Abb. 1)
Gelchromatographie von 3 ml Plasma, markiert mit $1\ \mu\text{Ci}\ \text{H}^3$ -Cholesterin, auf einer $2,0 \times 120\ \text{cm}$ Biogel A 5 m Säule.

Bei den Gelfiltrationsuntersuchungen mit eingeeengten Urinproben von Patienten mit nephrotischem Syndrom zeigten sich nach Elution über die Biogel A 5 m Säule in der Regel der Abbildung 2 entsprechende Chromatographiekurven.

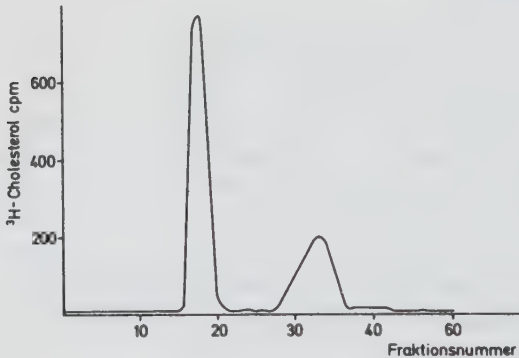


Abb. 2)

Charakteristische Gelchromatographie von eingeeengten Urinproben von Patienten mit nephrotischem Syndrom, markiert mit 1 μCi ^3H -Cholesterin, auf einer 2,0 x 120 cm Biogel A 5 m Säule.

Eine eingehende Untersuchung der im 1. Peak eluierten Moleküle bzw. Proteinkomplexe mit Hilfe der Immundiffusion nach Ouchterlony und immunochemischer Apoproteinbestimmungen ergab keinen Hinweis auf plasmatische Lipoproteine.

Die VLDL, die man theoretisch möglicherweise erwartet hätte, waren immunologisch nicht zu identifizieren. Das Hauptmerkmal dieser Arbeit richtete sich daher auf die im 2. und 3. Peak vorhandenen Bestandteile, die LDL und HDL enthielten.

Bei 6 der insgesamt 19 Patienten mit nephrotischem Syndrom kamen nach Elution über die Biogel A 5 m Säule der Abbildung 3 entsprechende Chromatographiekurven zur Darstellung.

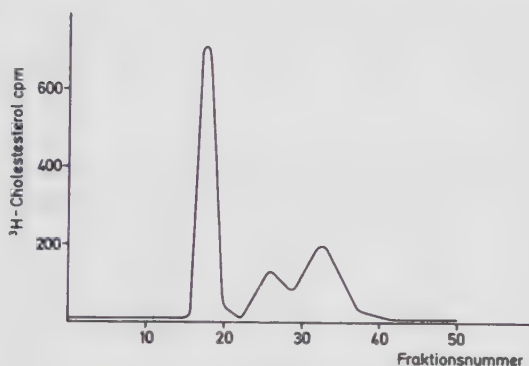


Abb. 3)
Gelchromatographie von eingeeengten Urinproben bei 6 der 19 Patienten mit nephrotischem Syndrom, markiert mit $1\ \mu\text{Ci}\ ^3\text{H}$ -Cholesterin, auf einer $2,0 \times 120\ \text{cm}$ Biogel A 5 m Säule.

3.1.2 Protein, Cholesterin, HDL-Cholesterin

Im 24 Std. Sammelurin aller 19 Patienten mit nephrotischem Syndrom wurden jeweils Protein und Cholesterin (im nativ-Urin) sowie HDL-Cholesterin (im durch Gelchromatographie in 3 Peaks aufgetrennten Urin) gemessen.

Tabelle 1)

	In.	Geschl.	Alter	Protein g/24 Std.	Chol. mg/24 Std.	HDL-Chol. (3. Peak) mg/24 Std.
1	B.R.	w	69	3,2	19,8	2,9
2	B.m.	m	34	24,5	57,9	1,7
3	B.H.	m	59	7,0	20,0	1,0
4	D.A.	m	55	6,9	12,2	0,7
5	F.J.	m	47	3,3	10,2	4,1
6	H.W.	m	50	4,1	5,9	0,1
7	H.F.	m	42	3,0	4,5	0,7
8	H.A.	m	40	3,1	6,2	0,1
9	H.J.	w	69	2,5	6,4	0,3
10	K.A.	m	39	4,9	24,6	7,6
11	K.Z.	m	44	5,1	9,8	3,1
13	L.A.	m	22	8,2	68,7	0,2
14	M.M.	w	21	2,0	3,1	0,4
15	N.F.	m	62	21,0	42,8	5,0
17	S.J.	m	50	18,3	38,0	1,4
18	S.E.	w	69	3,8	21,4	2,2
19	W.C.	w	17	7,7	21,5	0,9

Extremwerte:	17-96	2,0-24,5	3,1-68,7	0,1-8,3
Median:	44	4,9	20,0	1,0

Tabelle 1)

Ausscheidung von Protein, Cholesterin und HDL-Cholesterin im Urin bei 19 Patienten mit nephrotischem Syndrom.

3.1.3 Immundiffusion nach Ouchterlony

Bei der Immundiffusion nach Ouchterlony fand sich in 14 der 19 Fälle eine Immunpräzipitation, wenn die Urinproben gegen anti-Apo-HDL Antiseren getestet wurde. Nur in 5 der 19 Fälle fanden sich keine Präzipitationslinien.

In nur einem Fall ergab die Immundiffusion eine positive Reaktion bei Testung gegen anti-Apo-LDL.

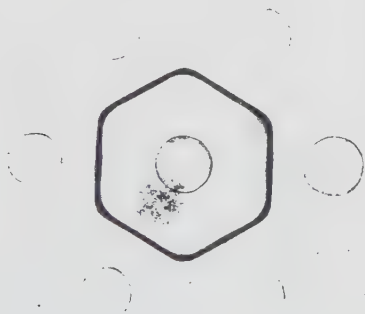


Abb. 4)

Immundiffusion von Urinlipoproteinen des 3. Peaks gegen anti-Apo-HDL

Tabelle 2)

	In	2. Peak		3. Peak	
		Antiserum gegen HDL	Antiserum gegen LDL	Antiserum gegen HDL	Antiserum gegen LDL
1	B.R.	-	-	+	-
2	B.M.	-	-	+	-
3	B.H.	+	+	+	-
4	D.A.	-	-	+	-
5	F.J.	-	-	+	-
6	H.W.	-	-	-	-
7	H.F.	-	-	-	-
8	H.A.	-	-	-	-
9	H.J.	-	-	+	-
10	K.A.	+	-	+	-
11	K.Z.	-	-	+	-
12	L.S.	-	-	+	-
13	L.A.	-	-	-	-
14	M.M.	-	-	-	-
15	N.F.	+	-	+	-
16	R.M.	-	-	+	-
17	S.J.	-	-	+	-
18	S.E.	+	-	+	-
19	W.C.	-	-	+	-

Tabelle 2)

Immundiffusion der isolierten Urin-Fraktionen (2. und 3. Peak) gegen anti-Apo-HDL und anti-Apo-LDL.

3.2 ERGEBNISSE: SERUM

Im Serum aller 19 Patienten mit nephrotischem Syndrom wurden jeweils Albumin, Cholesterin, Triglyceride sowie VLDL-, LDL- und HDL-Cholesterin bestimmt.

	In	Albumin g%	Chol. mg%	TG mg%	VLDL-Chol. mg%	LDL-CHOL. mg%	HDL-Chol. mg%
1	B.R.	3,7	197	261	45	135	26
2	B.M.	3,5	249	253	71	186	36
3	B.H.	2,6	464	570	103	183	38
4	D.A.	3,0	316	88	25	230	37
5	F.J.	1,8	693	630	152	418	40
6	H.W.	2,6	284	234	61	163	29
7	H.F.	3,7	284	326	69	218	21
8	H.A.	4,1	232	213	41	144	56
9	H.J.	4,0	245	349	61	150	21
10	K.A.	2,7	403	242	68	306	30
11	K.Z.	2,5	340	264	63	244	19
12	L.S.	1,7	485	465	135	300	50
13	L.A.	4,7	221	137	33	141	33
14	M.M.	3,3	191	153	28	130	32
15	N.F.	2,4	422	327	75	331	38
16	R.M.	3,2	209	143	21	151	37
17	S.J.	3,2	197	253	37	154	23
18	S.E.	3,0	198	161	19	191	19
19	W.C.	2,1	543	113	44	443	64

Extremwerte: 1,7-4,7/191-693/88-630/19-152/130-443/19-64

Median	3,0	284	253	45	186	33
Normalwert		-250	-200	-30	-180	m>35/w>40

Tabelle 3)

Albumin, Gesamtcholesterin, Triglyceride, VLDL-, LDL- und HDL-Cholesterin im Serum bei 19 Patienten mit nephrotischem Syndrom.

3.3 KORRELATION DER URIN- UND SERUMWERTE

Entsprechend den theoretischen Erwägungen, die dieser Arbeit zugrunde liegen (siehe Kapitel 1.2 Problemstellung), wurden die folgenden Korrelationen aufgestellt und untersucht:

1. Protein im Urin - Cholesterin im Urin
2. Protein im Urin - Albumin im Serum
3. Albumin im Serum - Cholesterin im Serum
4. Cholesterin im Urin - Cholesterin im Serum
5. HDL-Cholesterin im Urin - LDL-Cholesterin im Serum
6. HDL-Cholesterin im Urin - HDL-Cholesterin im Serum
7. HDL-Cholesterin im Serum - LDL-Cholesterin im Serum

1) Korrelation von Protein und Cholesterin im Urin.

Korrelationskoeffizient $r = 0,76$

Nach Testung des Korrelationskoeffizienten auf Signifikanz gegen 0 mit Hilfe des Verfahrens nach R.A. Fisher (62) (Siehe Kapitel 2.5 Statistik) zeigt sich, daß bei dieser Korrelation eindeutig Signifikanz auf dem 1% Niveau vorliegt.

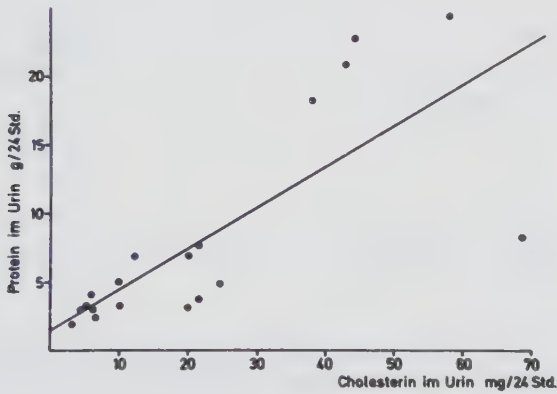


Abb. 5)

Korrelation von Protein und Cholesterin im Urin bei 19 Patienten mit nephrotischem Syndrom.

2) Korrelation von Protein im Urin und Albumin im Serum.

Korrelationskoeffizient $r = -0,25$

Hier wird eine negative Korrelation erwartet; dementsprechend wird eine einseitige Testung angewendet. Bei einer Fehlermöglichkeit von 10% (bei $n - 2 = 17$ Freiheitsgraden) erhält man einen grenzwertigen Korrelationskoeffizienten r_0 von $-0,49$. Da sich bei der untersuchten Korrelation ein Korrelationskoeffizient von $-0,25$ ergibt, kann man die Korrelation lediglich als "statistisch auffällig", nicht jedoch als "statistisch signifikant" bezeichnen.

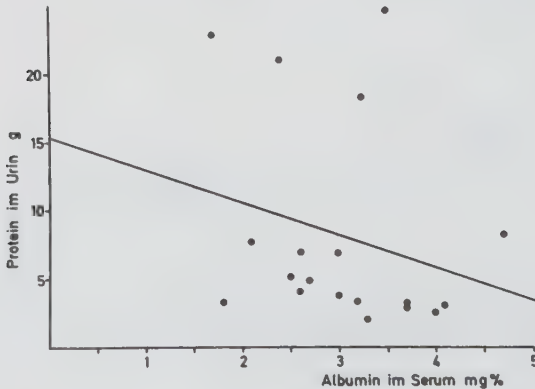


Abb. 6)

Korrelation von Protein im Urin und Albumin im Serum bei 19 Patienten mit nephrotischem Syndrom.

3) Korrelation von Albumin und Cholesterin im Serum.

Korrelationskoeffizient $r = -0,78$

Bei der Korrelation liegt eindeutig Signifikanz auf dem 1% Niveau vor.

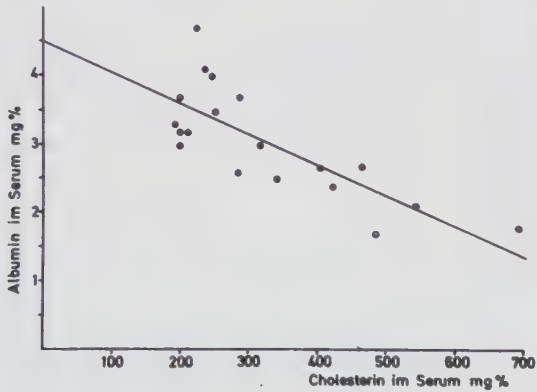


Abb. 7)

Korrelation von Albumin und Cholesterin im Serum bei 19 Patienten mit nephrotischem Syndrom.

4) Korrelation von Cholesterin im Urin und Cholesterin im Serum.

Korrelationskoeffizient $r = 0,01$

Hier besteht keine signifikante Korrelation.

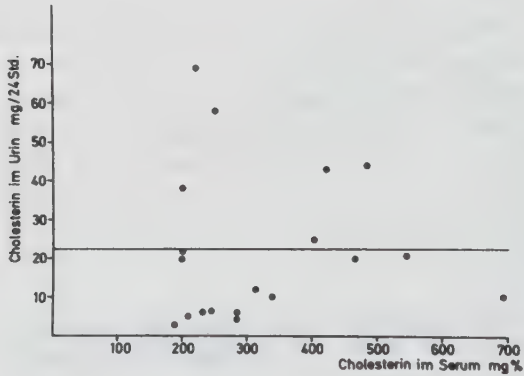


Abb. 8)

Korrelation von Cholesterin im Urin und Cholesterin im Serum bei 19 Patienten mit nephrotischem Syndrom.

5) Korrelation von HDL-Cholesterin im Urin und LDL-Cholesterin im Serum.

Korrelationskoeffizient $r = 0,54$

Hier wird eine positive Korrelation erwartet; dementsprechend wird eine einseitige Testung angewendet. Bei einer Fehlermöglichkeit von 1% ($p = 0,01$) und 17 Freiheitsgraden beträgt der grenzwertige Korrelationskoeffizient $r_0 = 0,53$. Da sich bei der untersuchten Korrelation ein Korrelationskoeffizient r von 0,54 ergibt, muß die Korrelation als statistisch signifikant bezeichnet werden.

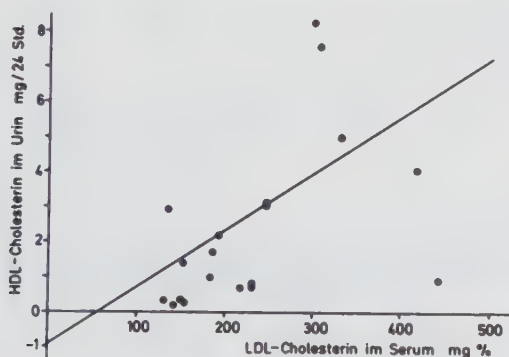


Abb. 9)
Korrelation von HDL-Cholesterin im Urin und LDL-Cholesterin im Serum bei 19 Patienten mit nephrotischem Syndrom.

6) Korrelation von HDL-Cholesterin im Urin und HDL-Cholesterin im Serum.

Korrelationskoeffizient $r = 0,08$

Hier besteht keine signifikante Korrelation.

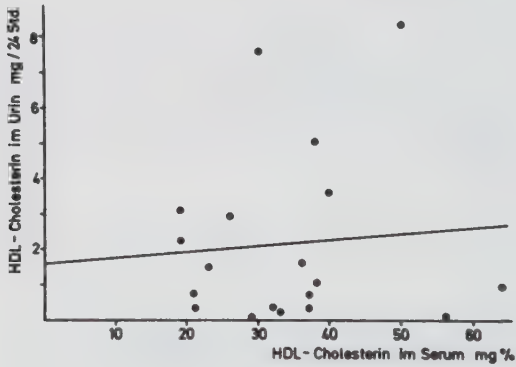


Abb. 10)

Korrelation von HDL-Cholesterin im Urin und HDL-Cholesterin im Serum bei 19 Patienten mit nephrotischem Syndrom.

7) Korrelation von HDL-Cholesterin und LDL-Cholesterin im Serum.

Korrelationskoeffizient $r = 0,48$

Selbst bei Anwendung einer einseitigen Testung und bei einer Fehlermöglichkeit von 1% ($p = 0,01$) kann die Korrelation nicht als signifikant bezeichnet werden, da der grenzwertige Korrelationskoeffizient $r_0 = 0,53$ beträgt, während hier ein Korrelationskoeffizient von nur 0,48 vorliegt.

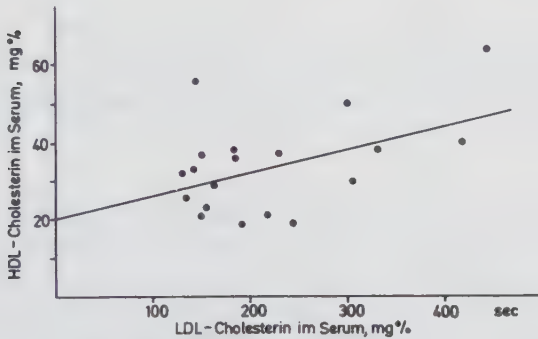


Abb. 11)

Korrelation von HDL- und LDL-Cholesterin im Serum bei 19 Patienten mit nephrotischem Syndrom.

3.4 APOPROTEINE AI, AII UND B IM 24 STD. SAMMELURIN

Mit Hilfe des Elektroimmunoassays (61) wurden die Apoproteine AI, AII und B im 24 Std. Sammelurin nach vorhergehender gelchromatographischen Aufbereitung bei 8 der 19 Patienten mit nephrotischem Syndrom immunochemisch bestimmt.

		2. Peak			3. Peak		
		Apo. AI	Apo. AII	Apo. B	Apo. AI	Apo. AII	Apo. B
		mg/24 Std	mg/24 Std	mg/24 Std	mg/24 Std	mg/24 Std	mg/24 Std
2	B.M.	-	-	-	-	-	-
3	B.H.	0,7	-	(+)	10	-	-
8	H.A.	-	-	-	-	-	-
10	K.A.	1,3	-	-	12,7	-	-
12	L.S.	-	-	-	4,1	1,5	-
15	N.F.	-	-	-	7,8	-	-
17	S.J.	-	-	-	0,7	-	-
18	S.E.	0,2	-	-	2,7	1,0	-

Tabelle 4)

Apoproteine AI, AII und B im 24 Std. Sammelurin bei 8 Patienten mit nephrotischem Syndrom.

4 DISKUSSION

4.1 PROBENMATERIAL

Grundsätzlich wurde angestrebt, die gewonnenen Proben möglichst sofort zu analysieren, um somit unbekannte Einflußfaktoren, wie bakterielles Wachstum oder Veränderungen durch Tiefgefrieren, von vornherein zu vermeiden.

4.2 METHODEN

Die Hauptschwierigkeit der vorliegenden Arbeit stellte die quantitative Bestimmung der HDL- und LDL-Ausscheidung im Urin dar, da erstens nur sehr geringe Mengen ausgeschieden wurden, und zweitens die Lipoproteine keine stabilen Moleküle darstellen und durch Präparationsmaßnahmen Veränderungen erfahren könnten.

Nach Ultrafiltration und gelchromatographischer Aufbereitung der eingesetzten Urinproben ergaben sich 2 bzw. 3 Peakfraktionen, deren charakteristische Elutionsprofile sich entsprechend den Abbildungen 2 bzw. 3 darstellten.

Die erste Peakfraktion bestand zum größten Teil aus einem makromolekularen Komplex, dessen Molekulargewicht mindestens $5 \text{ mal } 10^6$ Daltons betrug.

Eine eingehende Charakterisierung dieses Makromoleküls war von D. Jüngst vorgenommen worden (63). Versuche, in dieser ersten Peakfraktion HDL oder LDL mit Hilfe der Immundiffusion nach Ouchterlony bzw. durch immunochemische Bestimmung der Apoproteine AI, AII und B nachzuweisen, erbrachten auch bei der vorliegenden Arbeit jeweils negative Ergebnisse.

Auf die quantifizierende Analyse dieser makromolekularen Fraktion wurde verzichtet, da, nach Untersuchungen von D. Jüngst, diese Fraktion zellulärer Herkunft ist. LDL bzw. HDL fanden sich im Urin ausschließlich in der 2. und 3. Peakfraktion.

Auf Grund der quantitativen immunochemischen Bestimmung der Apoproteine AI, AII und B, die für die Apoproteine AI und AII im 24 Std. Sammelurin Werte bis zu 10 mg erbrachten, bei Apoprotein B jedoch nur in einem der untersuchten 9 Fälle eine leicht positive, jedoch nicht quantifizierbare Reaktion ergab, wurde gefolgert, daß die Quantität der HDL-Ausscheidung im Urin diejenige der LDL-Ausscheidung bei weitem überwiegt.

Diese Schlußfolgerung wird unterstützt durch die Ergebnisse der immunochemischen Untersuchung nach Ouchterlony, die nur in einem der 19 Fälle einen positiven Nachweis von LDL ergaben.

Das Auftreten des 2. Peaks bei 6 der 19 Patienten, das zumindest in 5 dieser Fälle nicht durch LDL bedingt ist, könnte durch eine Aggregationsbildung von HDL zustande kommen, die dann offenbar im LDL-Bereich wandern.

Als quantitatives Maß für die HDL-Menge im Urin, wie auch für die HDL-Menge im Serum, wurde die Cholesterinbestimmung nach Isolierung der HDL (im Urin durch Gel-filtration, im Serum durch präparative Ultrazentrifugation) verwendet.

Bei der Cholesterinbestimmung handelt es sich um eine schnell durchführbare und problemlose, auch im klinischen Routinebetrieb bewährte Untersuchungsmethode.

Da HDL zu 50% aus Protein bzw. zu ca. 35% aus Apoprotein AI und nur zu 20% aus Cholesterin (verestertes zu freies Cholesterin = 3:1) besteht (64), würde man vermuten, daß die Apoprotein AI-Bestimmung ein mehr repräsentatives Maß für die Quantifizierung von HDL darstellt.

Die immunochemische Bestimmung dieser Apoproteine AI, die in dieser Arbeit an 9 Patienten ebenfalls durchgeführt wurde, ist jedoch ein sowohl aufwendigeres, wie auch weniger bewährtes Verfahren mit einer geringeren Empfindlichkeit im Vergleich zur Cholesterinbestimmung.

Wie bereits erwähnt, diente die Immundiffusion nach Ouchterlony zur Identifizierung der Lipoproteine in den drei Peakfraktionen. Wenn bei 5 der 19 Patienten die Immundiffusion, trotz positiver Cholesterinwerte, negative Ergebnisse erbrachte, so liegt das daran, daß die Sensitivität dieser Methode wesentlich geringer ist als die der Cholesterinmessung. Bezeichnenderweise ergaben sich bei den 5 Patienten, bei denen die Immundiffusion nach Ouchterlony negativ ausfiel, auch bei der HDL-Cholesterinbestimmung weitgehend sehr niedrige

Werte (Rangplätze 14, 15, 17-19), in jedem Fall Werte unter 1 mg/24 Std.

Die enzymatischen Bestimmungen von Protein, Cholesterin und Triglyceriden wurden mit weitgehend unproblematischen Standardmethoden durchgeführt. Mehrfachbestimmungen sowie die Verwendung eines lyophilisierten Kontrollserums dienten hier der Zuverlässigkeit der Testreihen.

Auch die Auftrennung der Lipoproteine im Serum (7) und die Immundiffusion nach Ouchterlony (60) erwiesen sich als methodisch unproblematisch.

4.3 EINFLUSSFAKTOREN

Faktoren, die ohne Zweifel einen wichtigen Einfluß auf die gemessenen Werte im Urin, wie auch im Serum ausüben könnten, die in dieser Untersuchung jedoch nicht berücksichtigt wurden, sind die Ätiologie des nephrotischen Syndroms, der Allgemein- und Ernährungszustand des Patienten, die Diät, das Geschlecht, wie auch das Alter des Patienten. So wäre es durchaus vorstellbar, daß ein junger, männlicher, athletischer Patient mit gutem Allgemein- und Ernährungszustand und reichlicher Proteinzufuhr, trotz eines hohen Proteinverlustes im Urin, ein relativ hohes Serum-Albumin hätte. Genauso wäre es denkbar, daß eine junge, weibliche, ambulante Patientin, mit reichlich körperlicher Bewegung, trotz eines hohen Protein- und Cholesterinverlustes im Urin ein wesentlich niedrigeres Serum-Cholesterin aufweist, wie ein adipöser, älterer, männlicher, stationärer Patient mit wenig körperlicher Bewegung. Proteinreiche bzw. fettarme Diät bleibt mit Sicherheit ebenfalls nicht ohne Einfluß, besonders auf die jeweiligen Serumwerte.

4.4 ERGEBNISSE

Der größte Teil der Ergebnisse steht im gutem Konsens mit der Literatur.

So wurde die Tatsache bestätigt, daß Patienten mit nephrotischem Syndrom Störungen in ihren Serum-Lipid und - Lipoprotein Profilen aufweisen (1, 5, 6).

Wenn in der vorliegenden Arbeit bei nur 2 der 19 Patienten normale Serum-Lipoproteinprofile gefunden wurden, während Chopra 1971 bei seiner Untersuchung von 33 Patienten mit nephrotischem Syndrom in 48% der Fälle normale Serum-Lipoproteinprofile fand, ist diese Diskrepanz wohl dadurch zu erklären, daß, im Gegensatz zu der älteren Untersuchung, hier nur Patienten analysiert wurden, die keine Steroidtherapie bekamen (2). Bezüglich der Einteilung der Hyperlipoproteinämien nach Fredrickson (65) besteht weitgehend Übereinstimmung mit den Untersuchungen von Newmark und Anderson (37), die bei 41 der 63 untersuchten Patienten mit Glomerulonephritis das Typenmuster IIa fanden. Von den in der vorliegenden Arbeit untersuchten 14 Patienten mit Glomerulonephritis wiesen 9 eine isolierte, bzw eine zusammen mit der Vermehrung der VLDL eingehende Erhöhung von LDL auf, entsprechend den Typen IIa und IIb nach Fredrickson.

Bezüglich aller 19 Patienten mit nephrotischem Syndrom, unabhängig von seiner Ätiologie, ergab sich die folgende Typen-Einteilung nach Fredrickson:

9 Patienten wiesen den Typ IIb auf,
6 Patienten den Typ IV,
2 Patienten den Typ IIa und
2 Patienten hatten normale Lipoproteinwerte.

Nur bei 4 der 19 Patienten lagen die Serumwerte für Cholesterin, wie auch für Triglyceride, im Normbereich und von diesen hatten wiederum 3 abnorme Werte für LDL-Cholesterin und HDL-Cholesterin, so daß nur ein einziger (ein 17-jähriger, männlicher Patient) aller 19 Patienten ein normales Lipid- und Lipoproteinprofil aufwies.

Eine Erklärung für diese Tatsache mag sein, daß bei ihm die Nierenerkrankung erst seit 3 Monaten klinisch manifest geworden war und somit seine Stoffwechselfunktion noch nicht dekompensiert war.

Bezüglich der Urinuntersuchungen muß ganz generell gesagt werden, daß HDL im Urin durchaus zu identifizieren (mittels Immundiffusion nach Ouchterlony) und auch zu quantifizieren (mittels Cholesterinbestimmung im dritten "HDL"-Peak bzw. durch Apoprotein AI und AII-Messungen im "HDL"-Peak) ist. Im Gegensatz dazu wird aber LDL in so geringen Mengen ausgeschieden, daß eine Quantifizierung, auch wegen möglicher Überlagerung durch HDL-Aggregationen, nicht möglich war.

Auch der Großteil der aufgestellten Korrelationen steht in guter Übereinstimmung mit früheren Untersuchungen.

Insbesondere stellt die positive Korrelation von Protein im Urin und Cholesterin im Urin eine Bestätigung

der Arbeiten von Bing und Klahr dar, während die negativen Korrelationen von Albumin im Serum-Cholesterin im Serum und Protein im Urin-Albumin im Serum in Einklang mit den Ergebnissen von Baxter und Newmark stehen (3, 8, 26, 37).

Auch Gross, Bing und Klahr konnten keine signifikante Korrelation von Cholesterin im Urin und Cholesterin im Serum finden (2, 3, 26).

Die in 12 der 19 Fälle erniedrigten Serumwerte für HDL-Cholesterin bestätigen die Untersuchungen von Kashyap, während bei den LDL-Werten eine Diskrepanz besteht (43). Kashyap fand bei allen untersuchten 9 Patienten mit nephrotischem Syndrom ein erhöhtes LDL-Cholesterin, während hier in 8 der 19 Fälle das LDL-Cholesterin im Normbereich lag.

Wenn die Korrelation von Plasma-HDL zu Plasma-LDL bei einem Korrelationskoeffizienten von 0,48 auch keineswegs als statistisch signifikant bezeichnet werden kann, so ist doch überraschend, daß zwischen den beiden Meßgrößen eine "statistisch auffällige", positive Beziehung besteht. Aber auch dieses Ergebnis steht nicht im Widerspruch zu früheren Arbeiten. So fand Gherhardi 1977, der allerdings, im Gegensatz zur vorliegenden Arbeit, die Klasse der HDL noch in zwei Subklassen, HDL₂ und HDL₃ unterteilte, neben einer inversen Beziehung zwischen HDL₂ und LDL, erhöhte Werte für HDL₃, bei gleichzeitig erhöhtem LDL, besonders bei Patienten mit leichten Formen von nephrotischem Syndrom (39). Auf Grund der Erkenntnis, daß HDL bei Patienten mit nephro-

tischem Syndrom im Urin verloren geht, und wegen der Tatsache, daß HDL_2 größer ist als HDL_3 , hätte Gherhardi eher entgegengesetzte Ergebnisse vermutet. Er erklärte sich seine Ergebnisse so, daß HDL_3 , das vorwiegend die neu synthetisierten HDL-Moleküle enthält, wegen der HDL-Verluste im Urin vermehrt sezerniert wird, und gleichzeitig die Umwandlungsrate von HDL_3 in HDL_2 vermindert ist.

Die von Kashyap 1979 geäußerte Vermutung, daß bei hohen HDL-Verlusten im Urin das Plasma-HDL niedrig sein müßte, konnte nicht bestätigt werden (43). Der Regulationsmechanismus des HDL-Plasmaspiegels (z.B. über Lebersynthese) ist so vielfältig, daß der HDL-Urinverlust den HDL-Plasmaspiegel nicht signifikant senken konnte.

Außerdem muß berücksichtigt werden, daß die Quantität der HDL-Verluste im Urin, verglichen mit dem Gesamtkörper-HDL, nur sehr niedrig ist. Wenn man bei einem 70 kg schweren Patienten eine durchschnittliche Plasmamenge von 3 l und eine durchschnittliche Plasma HDL-Konzentration von 34 mg% bei einem gleichzeitigen täglichen HDL-Verlust im Urin von durchschnittlich 2,2 mg zugrunde legt, beträgt der tägliche HDL-Verlust im Urin nur 0,2 % des Gesamtkörper-HDL-Gehaltes von 1020 mg.

Zwischen den HDL-Verlusten im Urin und dem LDL-Cholesterin im Plasma bestand bei einem Korrelationskoeffizienten von $r = 0,54$ und einer Fehlermöglichkeit von 1% gerade noch eine statistisch signifikante Korrelation. Zusammen mit dem weiter oben gesagten, muß man jedoch

davon ausgehen, daß die mehrfach in der Literatur erwähnte (31, 66) und auf Grund theoretischer Erwägungen durchaus plausible Hypothese, der Verlust von im HDL enthaltenen Aktivatoren bzw. Koenzymen der LPL und der LCAT, wie Apoprotein AI, AII, AIII und E, würde wesentlich zur Hyperlipidämie beim nephrotischen Syndrom beitragen, nicht zutrifft. Der HDL-Verlust im Urin kann zwar durchaus als Maß für die Permeabilitätsstörung der glomerulären Membran und somit auch als Hinweis für den Schweregrad der Nierenveränderung beim nephrotischen Syndrom, nicht jedoch als Erklärungsmöglichkeit für die Hyperlipidämie herangezogen werden.

5 Z U S A M M E N F A S S U N G

Die Stoffwechselstörungen bei Patienten mit nephrotischem Syndrom, die sich insbesondere in erhöhten Serum-Lipidwerten äußern, waren schon seit Beginn dieses Jahrhunderts Anlaß für eingehende Untersuchungen, speziell seit die große klinische Bedeutung erhöhter Fettwerte für das Zustandekommen arteriosklerotischer Erkrankungen deutlich wurde (1,2,5,19,20,21,22).

In der vorliegenden Arbeit wurden bei 19 Patienten mit nephrotischem Syndrom die Serumwerte für Cholesterin, Protein, HDL- und LDL-Cholesterin gemessen und mit den jeweiligen Werten im 24 Std. Urin korreliert.

Während die Bestimmung der Serumwerte mit Hilfe von in der klinischen Routine bewährten Methoden (Auftrennung mit der Ultrazentrifuge und anschließende enzymatische Bestimmung) keine größeren Probleme aufwies, waren die Untersuchungen im Urin weit aufwendiger und komplizierter.

Mit Hilfe der Gelfiltration gelang eine Aufspaltung des Urins in zwei bzw. drei Peakfraktionen, wobei der in allen Elutionsprofilen vorhandene "dritte" Peak durch die Immundiffusion nach Ouchterlony sowie mittels immunochemischer Apoproteinbestimmung eindeutig als HDL-Fraktion identifiziert und mittels enzymatischer Cholesterinbestimmung auch quantifiziert wurde.

Die erste Peak-Fraktion, die in der Habilitationsarbeit von D. Jüngst eingehender beschrieben wurde, ent-

hält keine plasmatischen Lipoproteine und wurde daher in der vorliegenden Studie nicht quantifiziert (63).

In dem bei 6 der Patienten vorkommenden "zweiten" Peak (zwischen 1. Peakfraktion und "HDL"-Peak) konnte in nur einem der 19 Fälle neben HDL auch LDL eindeutig identifiziert werden, eine Quantifizierung der LDL-Ausscheidung war mithin nicht möglich.

Die gemessenen Serumwerte zeigten eine gute Übereinstimmung mit früheren Untersuchungen.

So fanden sich nur 4 Patienten, bei welchen die Serumwerte für Cholesterin, wie auch für Triglyceride, im Normbereich lagen, und nur ein einziger aller 19 Patienten wies ein normales Lipid- und auch Lipoproteinprofil auf.

Wird die Typen-Einteilung der Hyperlipoproteinämien nach Fredrickson zugrunde gelegt, sind 9 Patienten dem Typ IIb zuzurechnen, 6 dem Typ IV, 2 dem Typ IIa und 2 haben normale Lipoproteinwerte.

Die positive Korrelation von Protein im Urin und Cholesterin im Serum sowie die negativen Korrelationen von Albumin im Serum und Cholesterin im Serum und Protein im Urin und Albumin im Serum und die fehlende Korrelation von Cholesterin im Urin und Cholesterin im Serum bestätigten frühere Analysen (2, 3, 8, 26, 37); wie auch die zunächst überraschende, positive Beziehung zwischen Plasma-HDL und Plasma-LDL nicht im Widerspruch zu älteren Arbeiten steht (39).

Die fehlende Beziehung zwischen HDL im Urin und HDL im Plasma, die nur bei einer Fehlermöglichkeit von 1% ge-

rade noch signifikant positive Korrelation zwischen HDL im Urin und LDL im Plasma sowie die Tatsache, daß täglich nur ca. 0,2% des Gesamtkörper-HDL-Gehaltes ausgeschieden wird, widersprechen der in der Literatur erwähnten Hypothese, daß durch den Verlust von in HDL enthaltenen Aktivatoren bzw. Koenzymen der LPL und der LCAT wesentlich zur Hyperlipidämie beim nephrotischem Syndrom beigetragen würde.

6 L I T E R A T U R V E R Z E I C H N I S

- 1) Epstein A.A.
The nature and treatment of chronic parenchymatous nephritis.
J. Amer. Med. Ass. 69:444, 1917
- 2) Gross O.
Zum Cholesterinstoffwechsel
Verh. Dtsch. Ges. Inn. Med. 33:343, 1921
- 3) Bing J., Starup U.
Investigations of hyperlipidemia and cholesterinuria.
Acta Med. Scand 86:12, 1935
- 4) Oncley J.L.
Lipoproteins of human plasma.
Harvey Lect. 50:71,, 1954-1955
- 5) Baxter J.H., Goodman H.C., Havel R.J.
Serum lipid and lipoprotein alterations in nephrosis.
J. Clin. Invest. 39:455-465, 1960
- 6) Gitlin D., Cornwell D.G., Nakasato D.
Studies on the metabolism of plasma proteins in the nephrotic syndrom.
II. The lipoproteins.
J. Clin. Invest. 37:172, 1958

- 7) Havel R.J., Eder A.H., Bragdon J.H.
The distribution and chemical composition of ultracentrifugally separated lipoproteins in human serum.
J. Clin. Invest. 34:1345, 1955
- 8) Baxter J.H.
Hyperlipoproteinemia in nephrosis.
Arch. Inter. Med. 109:742-57, 1962
- 9) Rosenmann R.H., Friedman M.
In vivo studies of the role of albumin in endogenous and heparin-activated lipemia-clearing in nephrotic rats.
J. Clin. Invest. 36:700, 1957
- 10) Schrade W., Böhle A., Becker G.
Über die Ausscheidung von Lipoproteiden im Urin bei den sogenannten Albuminurinen.
Dtsch. Arch. Klin. Med. 202:415, 1955
- 11) Marsh J.B., Drabkin D.L.
Experimental reconstructions of metabolic pattern on lipid nephrosis.
Metabolism 9:946, 1960
- 12) Radding C.M., Steinberg D.
Studies on the synthesis and secretion of serum lipoproteins by rat liver slices.
J. Clin. Invest. 39:1560, 1960
- 13) Gutman A., Shafir E.
Adipose tissue in experimental nephrotic syndrome.
Amer. J. Physiol. 205:703, 1963

- 14) Rosenman R.H., Byers S.O.
Lipoprotein lipase metabolism in experimentally nephrotic rats.
Proc. Soc. Exp. Biol. Med. 103:31, 1960
- 15) Nikkilä E., Gräsbeck R.
Heparin in lipoid nephrosis.
Acta Med. Scand. 150:39, 1954
- 16) Hyman L. R., Wong P.W.K., Grossmann A.
Plasma lipoprotein lipase in children with idiopathic nephrotic syndrom.
Pediatrics 44:1021-24, 1969
- 17) Yamada M., Matsuda I.
Lipoprotein lipase in clinical and experimental nephrosis.
Clin. chim. acta 30:787-94, 1970
- 18) Jensen H.
Plasma protein and lipid pattern in the nephrotic syndrom.
Acta Med. Scand. 182:465-473, 1967
- 19) Berliyne G.M., Mallick N.P.
Ischemic heart disease as a complication of nephrotic syndrom.
Lancet 2:399, 1969
- 20) Alexander J.H., Schapel G.J., Edwards K.D.G.
Increased incidence of coronary heart disease associated with combined elevation of serum triglycerides and cholesterol concentrations in the nephrotic syndrom in men.
Med. J. Anst. 2:119, 1974

- 21) Curry R.C., Roberts W.C.
Status of the coronary arteries in the nephrotic syndrom.
Am. J. Med. 63:183, 1977
- 22) Castelli W.J., Doyle J.T., Gordon T., Hames C.G.
HDL cholesterol and other lipids in coronary artery disease.
Circulation 55:767, 1977
- 23) Mc Kenzie K.F.C., Nestel P.J.
Studies on the turnover of triglyceride and esterified cholesterol in subjects with the nephrotic syndrome.
J. Clin. Invest. 47:1685-95, 1968
- 24) Kekki M., Nikkilä E.A.
Plasmaliglyceride metabolism in the adult nephrotic syndrom.
Europ. J. Clin. Invest. 1:345-51, 1971
- 25) Chopra J.S., Malick N.P.
Hyperlipoproteinemias in nephrotic syndrom.
The Lancet 317-321, 1971
- 26) Klahr S., Tripathy K., Bolanos O.
Qualitative and quantitative analysis of urinary lipids in the nephrotic syndrom.
J. Clin. Invest. 16:1475, 1967
- 27) Felts J.M., Mayerle J.A.
Urinary loss of plasma HDL as a possible cause of the hyperlipidemia in the nephrotic syndrom.
Circulation 50:111-263, 1974

- 28) Havel R.J., Kane J.P., Kashyap M.L.
Interchange of apolipoproteins between chylomicrons and HDL during alimentary lipemia in man.
J. Clin. Invest. 52:32-38, 1973

- 29) Eisenberg S., Levy R.J.
Lipoprotein metabolism.
Adv. Lipid Res. 13:1-89, 1975

- 30) Schaefer E.J., Eisenberg S., Levy R.J.
Lipoprotein apoprotein metabolism.
J. Clin. Res. 19:667-87, 1978

- 31) Gherhardi E., Vecchia L., Calandra S.
Experimental nephrotic syndrome in the rat induced by puromycin aminonucleoside.
Exp. and Molecular Pathology 32:128-142, 1980

- 32) De Mendoza S.G., Kashyap M.L., Chen C.Y., Lutmer R.F.
High density lipoproteinuria in nephrotic syndrom.
Metabolism 25:1143, 1976

- 33) Strapans I., Felts J.M.
The composition of urinary proteins from patients with the nephrotic syndrom.
(Abstract) Circulation 54:165, 1976

- 34) Strapans I., Felts J.M.
The effect of α_1 -acid glycoprotein on triglyceride metabolism in the nephrotic syndrom.
Biochemical and biophysical research communications Vol. 79,4:1272-78, 1977

- 35) Hardwicke J., De Vaux St.Cyr.
Studies of the serum apoproteins.
Clin. Chim. Acta 6:503-7, 1961
- 36) Bamberg J.R., Shooter E.M., Willson L.
Polyacrylamide-electrophoresis.
Neurobiology 3:162-75, 1973
- 37) Newmark S.R., Anderson R.F., Donadoi I.V., Ellefson R.D.
Lipoprotein profiles in adult nephrotics.
Maya Clin. Proc. 50:359-64, 1975
- 38) Ellefson R.D., Jimenez B.J., Smith R.C.
Alpha₂-lipoprotein of high density in human blood.
Mayo Clin. Proc. 46:328-32, 1971
- 39) Gherhardi E., Rore E., Calandra S., Genova R., Tamborino A.
Relationship among the concentrations of serum lipoproteins and changes in the chemical composition in patients with untreated nephrotic syndrom in man.
Eur. J. Clin. Invest. 7:563, 1977
- 40) Scow R.D., Olivecrona T.
Effect of albumin on products formed from chylomicron triacylglycerol by lipoprotein lipase in vitro.
Biochim. Biophys. Acta 487:472-86, 1977

- 41) Fielding C.J., Shore V.G., Fielding P.E.
LCAT: effects of substrate composition upon enzyme activity.
Biochim. Biophys. Acta 270:513-18, 1972
- 42) Kashyap M.L., Srivastava L.S., Hynd B.I., Glueck C.J., Gartside P.S.
Apo CII and LPL in human nephrotic syndrom.
Arteriosclerosis 35:29-40, 1980
- 43) Kashyap M.L., Ooi B.C., Hynd B.A.
Sequestration and excretion of HDL and LDL by the kidney in human nephrotic syndrom.
Artery 6(2):108-121, 1979
- 44) Ouchterlony O.
Progress in Allergy 5:1, 1958
and 6:30, 1962 S.Karger, Basel/New York
- 45) Lipid Research Clinics Program
National Institute of Health, Department of Health, Education and Welfare Publication
No. (NIH) 75 - 628:9, 1974
- 46) Sarre H.
Nierenkrankheiten, Physiologie, Pathophysiologie, Untersuchungsmethoden, Klinik und Therapie.
Georg Thieme Verlag Stuttgart, 1976
- 47) Brenner B.M., Rector F.C.
The kidney, Philadelphia Saunders, 1981

- 48) Eggstein M.
Eine neue Bestimmung der Neutralfette im Blutserum und Gewebe.
Klin. Wschr. 44:267, 1966
- 49) Eggstein M., Kreutz F.H.
Eine neue Bestimmung der Neutralfette in Blutserum und Gewebe.
Klin. Wschr. 44:262, 1966
- 50) Schmidt F.H., Dahl K.
Zur Methode der enzymatischen Neutralfettbestimmung in biologischem Material.
Z. Klin. Chem. 6:156, 1968
- 51) Röschlau P., Bernt E., Gruber W.
Determination of cholesterol.
IX. Int. Congr. on Clin. Chemistry, Toronto, 1975 Abstr. No.1
- 52) Henry R.J.
Clinical chemistry.
Harper & Row Publishers, New York 1964, S. 181
- 53) Josephson G., Gyllenswärd C.
The development of the protein fractions and of cholesterol concentration in the serum of normal infants and children.
Scand. J. Clin. Lab. Invest. 9:29, 1957

- 54) Weichselbaum T.E.
An accurate and rapid method for the determination of proteins in small amounts of blood serum and plasma.
Amer. J. Clin. Path. Techn. Bull. 10:40, 1946
- 55) Sundermann F.W., Falvo E.A., Kallik C.J.
Studies of the serum proteins.
Amer. J. Clin. Path. 30:112, 1958
- 56) Tamm I., F.L. Horsfall, Jr.
A mucoprotein derived from human urine with influenza, mumps, and Newcastle disease viruses.
J. Exp. Med. 95:71, 1952
- 57) McQueen E.G., Engel G.B.
Factors determining the aggregation of urinary mucoprotein.
J. Clin. Path. 19:392, 1966
- 58) Foreman J.R., Karlin J.B., Edelstein C., Juhn J.Y., Rubenstein A.H., Scanu A.M.
Fractionation of human serum lipoproteins by single-spin gradient ultracentrifugation: quantification of apolipoproteins B and A-I and lipid components.
J. Lip. Res. 18:759, 1977
- 59) Sata D., Havel R.J., Jones A.L.
Characterisation of subfractions of triglyzeride-rich lipoproteins separated by gel chromatography from blood plasma of normolipemic and hyperlipemic humans.
J. Lipid Res. 13:757, 1972

- 60) Ouchterlony D.
Handbook of Immunodiffusion and Immuno-electrophoresis.
Ann Arbor Science Publishers.
Ann Arbor, MI. 21, 1969
- 61) Laurell C.B.
Antigen - antibody crossed electrophoresis.
Analytical biochemistry, 10:358-361, 1965
- 62) Sachs L.
Angewandte Statistik.
3. Auflage 328-330, 1979
- 63) Jüngst D.
Habilitationsschrift: Cholesterin im Urin - Grundlagen
und klinische Bedeutung, 1982
- 64) Eisenburg S.
Lipoprotein metabolism.
Progress in biochemical pharmacology.
(Vol. 15) 1979
- 65) Fredrickson D.S., Levy R.J.
Familial Hyperlipoproteinemias.
New York 545-614, 1972
- 66) de Mendoza S.G., Kashyap M.L., Chen C.Y., Lutmer R.F.
High density lipoproteinuria in nephrotic syndrom.
Metabolism 25:1143, 1976
- 67) Weisweiler P., Schwandt P., Friedl C.
Determination of human apolipoproteins A-I, B, and E by
laser nephelometry.
J. Clin. Chem. Clin. Biochem. 984, im Druck

68) Weisweiler P., Schwandt P.

Quantitation of human apolipoprotein A-II by electroimmunoassay

J. Clin. Chem. Clin. Biochem. 19:872, 1981

D A N K S A G U N G

Für die Überlassung des Themas möchte ich Herrn Priv. Doz. Dr. med. Dieter Jüngst meinen herzlichsten Dank aussprechen.

Sehr zu Dank verpflichtet bin ich ferner insbesondere Herrn Priv. Doz. Dr. med. P. Weisweiler, der in seinem Labor die Messungen im Serum, wie auch die Apoproteinbestimmungen durchführte und Herrn Dr. med. P. Töpfer, Stationsarzt der nephrologischen Abteilung des Klinikums Großhadern, der mich bei der Beschaffung der Urin- bzw. Serumproben unterstützte.

In diesem Zusammenhang danke ich allen Schwestern und Pflegern, die mir bei der Sammlung der Proben behilflich waren.

Abschließend bedanke ich mich noch bei Frau B. Häuserer, die mir mit ihrer Arbeit im Labor großzügig zur Seite gestanden ist.

LEBENS LAUF

Am 22. Mai 1956 wurde ich als Sohn des kaufmännischen Angestellten Walter Kutschera und seiner Ehefrau, Anna Kutschera, geb. Hufmayr, in Obergünzburg geboren.

Von 1962 bis 1967 besuchte ich die Volksschule in Obergünzburg, danach das Peter-Dörfler Gymnasium in Marktoberdorf. Meine Schulzeit endete nach dem Abitur im Juni 1976.

Im Sommersemester 1977 immatrikulierte ich für das Studienfach Medizin an der Ludwig-Maximilians-Universität in München.

Die Ärztliche Vorprüfung bestand ich im März 1979, den ersten Abschnitt der Ärztlichen Prüfung im März 1980 und den zweiten Abschnitt der Ärztlichen Prüfung im März 1982.

Während dieser Zeit leistete ich meine Famulaturen im Kreiskrankenhaus Obergünzburg, in der Praxis von Dr. H. Morhardt und zusätzlich ein vierwöchiges Praktikum in der Orthopädischen Universitätsklinik München ab.

Im praktischen Ausbildungsjahr arbeitete ich im ersten Tertial in der Dermatologischen Universitätsklinik in München, während ich Innere Medizin und Chirurgie im Lehrkrankenhaus Augsburg absolvierte.

Im April 1983 beendete ich mein Studium mit dem dritten Abschnitt der Ärztlichen Prüfung und erlangte die Ärztliche Approbation am 5. Mai 1983.

Seit August 1983 leiste ich meinen Wehrdienst als Truppenarzt der Gebirgssanitätär in Kempten. Im Anschluß daran beabsichtige ich, die Facharztausbildung in Innerer Medizin zu absolvieren.

Mit der hier vorliegenden Arbeit begann ich im März 1980 und konnte sie dreieinhalb Jahre später abschließen.

A handwritten signature in cursive script, reading "Peter Kutschera".

Peter Kutschera

München, im Dezember 1983

